

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

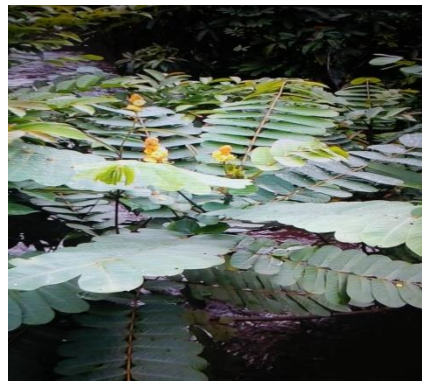
2.1 Uraian Mengenai Tumbuhan

Tinjauan mengenai tumbuhan ini meliputi klasifikasi tumbuhan, nama daerah, deskripsi tumbuhan, khasiat dan kegunaan serta kandungan kimia.

2.1.1 Nama Tanaman

Nama lain dari daun ketepeng cina ini berbagai macam antara lain: Gelanggang (Kalimantan Selatan), ketepeng kebo, ketepeng cina (Jawa), ketepeng badak, ki manila (Sunda), daun ketepeng daun kurap, gelenggang ketepeng kupang-kupang (manado), ancon–anconan (Madura), sajamera (halmahera), kupang-kupang (Ternate), tabunkun (Tidore), gelanggang uru'kap (Sumatera) (Putri, 2016).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman



Gambar 2.1 Tanaman Gelinggang

Sumber: Dokumen Pribadi

Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Rosales
Famili : Leguminosae
Genus : Cassia
Spesies : *Cassia alata*. L (Putri, 2016).

2.1.3 Morfologi Tanaman

Tumbuhan gelinggag (*Cassia alata* L.) termasuk tumbuhan dikotil yang mempunyai sistem perakaran tunggang, yaitu memperlihatkan akar pokoknya yang bercabang-cabang menjadi akar yang lebih kecil dan berbentuk kerucut panjang yang terus tumbuh lurus ke arah bawah. Sistem perakaran tunggang ini umumnya berfungsi untuk memperluas bidang penyerapan dan memperkuat tegaknya batang. Jika dilihat dari batangnya, tumbuhan gelinggag (*Cassia alata* L.) merupakan tumbuhan berkayu dengan ketinggian ± 3 meter, bentuk batang bulat dan mempunyai sistem percabangan simpodial. Daun gelinggag (*Cassia alata* L.) berbentuk jorong sampai bulat telur sungsang, merupakan daun majemuk menyirip genap yang berpasang-pasangan sebanyak 5–12 baris, mempunyai anak daun yang kaku dengan panjang 5–15 cm, lebar 2,5–9 cm, ujung daunnya tumpul dengan pangkal daun runcing serta tepi daun rata. Pertulangan daunnya menyirip dengan tangkai anak daun yang pendek dengan panjang ± 2 cm dan berwarna hijau. Buah gelinggag (*Cassia alata* L.) berupa polong-polongan yang gepeng panjang persegi empat dengan panjang ± 18 cm dan lebar $\pm 2,5$ cm berwarna hitam. Di samping itu, buah gelinggag juga mempunyai sayap pada kedua sisinya dengan panjang 10–20 mm dan lebar 12–15 mm. Jika buah tersebut masak, maka pada kedua sisinya akan membuka atau pecah sehingga biji yang terdapat di dalam polong akan terlempar keluar. Biji yang dimiliki gelinggag (*Cassia alata* L.) berbentuk segitiga lancip dan berbentuk pipih yang berjumlah 50–70 biji pada setiap polongnya (Saputra, 2014).

2.1.4 Habitat dan Penyebaran

Gelinggag (*Cassia alata* L.) berasal dari daerah tropik Amerika dan biasanya hidup pada dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1.400 meter di atas permukaan laut (Saputra, 2014).

2.1.5 Kandungan Kimia

Menurut Octarya & Saputra (2015) yang melakukan uji skirining fitokimia pada daun gelinggang dengan pembuatan serbuk simplisia bahwa mengandung zat aktif senyawa flavonoid, alkaloid, antrakinon, saponin dan tanin.

2.1.5.1 Flavonoid

Flavonoid senyawa fenol yaitu suatu gugus —OH yang terikat pada karbon cincin aromatik. Produk radikal bebas senyawa ini terstabilkan secara resonansi dan tidak reaktif bila dibandingkan dengan kebanyakan radikal bebas lain sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan (Shinta & Kusuma, 2015).

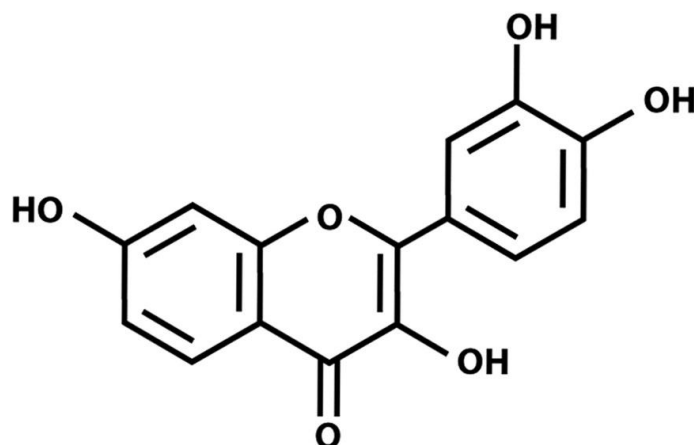
Flavonoid tersebar luas di alam, terutama dalam tumbuhan tingkat tinggi dan jaringan muda. Sekitar 5–10% metabolit sekunder tumbuhan adalah flavonoid. Flavonoid berperan sebagai pigmen bunga dan berperan dalam menarik serangga untuk membantu penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tubuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba, antivirus, antiinsektisida, dan antioksidan (Wachidah, 2013).

Flavonoid adalah antioksidan eksogen yang telah dibuktikan bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan bisa secara langsung maupun secara tidak langsung. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas. Flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme (Shinta & Kusuma, 2015).

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol. Istilah flavonoid diberikan untuk senyawa-senyawa fenol yang berasal dari kata flavon yaitu salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dalam tumbuhan. Kerangka dasar flavonoid yaitu 15 atom karbon yang membentuk susunan C₆-C₃-C₆. Susunan tersebut dapat menghasilkan tiga struktur, yaitu: 1,3-diarilpropan (flavonoid), 1,2-diarilpropan (isoflavonoid), 1,1-diarilpropan (neoflavonoid).

Flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkal radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan. Flavonoid merupakan inhibitor yang kuat terhadap peroksidasi lipid dan juga mampu menghambat aktivitas enzim lipooksigenase dan siklooksigenase. Pembanding baku yang digunakan adalah rutin yaitu glikosida flavonol, rutin sendiri sangat umum ditemukan dalam tumbuhan. Struktur kimia rutin. Kandungan flavonoid total dapat ditentukan secara spektrofometri dengan reagen AlCl₃ dan dinyatakan dalam RE (rutin *equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan miligram rutin dalam 1 gram sampel (Wachidah, 2013).

Flavonoid merupakan senyawa yang umumnya terdapat pada tumbuhan berpembuluh. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Dalam menganalisis flavonoid, yang diperiksa ialah aglikon dalam ekstrak tumbuhan yang sudah dihidrolisis. Proses ekstraksi senyawa ini dilakukan dengan fenol mendidih untuk menghindari oksidasi enzim. Flavonoid bagi tumbuhan bertindak sebagai penarikan serangga yang berperan dalam proses penyerbukan dan penarikan perhatian binatang yang membentuk penyebaran biji (Nuraina, 2015).



Gambar 2.2 Struktur Flavonoid

2.1.5.2 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa nitrogen (N) yang merupakan hasil metabolit sekunder pada tumbuh-tumbuhan. Umumnya alkaloid menunjukkan efek fisiologik yang menarik, sehingga banyak digunakan sebagai obat-obatan. Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Wachidah, 2013).

Alkaloid adalah golongan senyawa yang bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan berbentuk siklik, serta bereaksi dengan pereaksi alkaloid. Menurut sifatnya alkaloid umumnya berbentuk kristal padat dan sebagian kecil bersifat cair, memutar bidang polarisasi dan terasa pahit. Alkaloid bentuk bebas atau biasanya mudah larut dalam pelarut organik dan sukar larut dalam air. Alkaloid dapat dideteksi dengan menggunakan pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Baughardat (Nuraina, 2015).

2.1.5.3 Antrakinon

Antrakuinon mungkin dijumpai baik dalam bentuk glikosida dengan ikatan O- atau C-glikosida maupun aglikonnya. Biasanya digunakan sebagai zat warna dan katartiks (*purgatives*). Turunan antrakuinon biasanya merupakan senyawa berwarna merah jingga yang larut dalam air panas dan alkohol encer (Wachidah, 2013).

Identifikasinya dilakukan dengan cara uji Borntrager's, tetapi kadang-kadang uji ini memberikan hasil negatif pada antrakuinon yang sangat stabil atau turunan antranol, untuk itu identifikasi dilakukan modifikasi uji Borntrager's. Antrakuinon memberikan warna yang spesifik dengan basa seperti, merah, violet dan hijau. Secara spektrofotometri antrakuinon memberikan pita resapan yang berbeda dengan senyawa kuinon lainnya, dimana memberikan 4 atau 5 pita resapannya pada daerah UV dan sinar tampak. Paling tidak 3 dari pita resapan berkisar antara 215 dan 300 nm, dan lainnya diatas 430 nm (Wachidah, 2013).

2.1.5.4 Tanin

Istilah tanin pertama kalinya digunakan untuk bahan dari tumbuhan yang mempunyai kemampuan untuk menggumpalkan protein hewan pada proses penyamakan kulit. Saat ini tanin mempunyai nilai penting sebagai sitotoksik, antikanker dan antitumor. Tanin terdiri dari 2 kelompok berdasarkan hasil hidrolisanya. Tipe pertama dikenal sebagai pirogallol tanin yaitu, senyawa-senyawa fenolik yang mempunyai ikatan ester dengan gula. Tipe kedua adalah tannin terkondensasi yang kadang-kadang disebut katekol tanin dan merupakan polimer dari

senyawa- senyawa fenolik berhubungan dengan pigmen flavonoid.

Penambahan suatu asam, kondensasi tanin akan mengalami dekomposisi menjadi senyawa-senyawa berwarna merah yang tidak larut disebut dengan phlobaphene atau merah tanin. Tanin pada ekstrak tumbuh-tumbuhan diidentifikasi dengan uji gelatin dengan prinsip pengendap protein dari gelatin oleh tanin. Dan hasil positif juga diberikan oleh pereaksi ferri klorida (FeCl_3), dimana tanin terhidrolisa memberikan warna biru atau biru-hitam, sedangkan kondensasi tanin memberikan warna biru-hijau (Wachidah, 2013).

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, rasa sepat dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung silang protein. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air. Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi (Nuraina, 2015).

2.1.5.5 Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, dapat menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi rendah dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah pada tikus. Identifikasi saponin dapat dilakukan dengan mengocok ekstrak bersama air hangat di dalam tabung reaksi dan akan timbul busa yang dapat bertahan lama, setelah penambahan HCl 2N busa tidak hilang. Timbulnya busa pada uji Forth

menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Wachidah, 2013).

Saponin adalah glikosida triterpen yang merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang jika dikocok kuat akan menimbulkan busa. Pada umumnya, saponin bereaksi netral (larut dalam air), beberapa ada yang bereaksi dengan asam (sukar larut dalam air) dan sebagian kecil ada yang bereaksi dengan basa (Nuraina, 2015).

2.2 Ekstrak

2.2.1 Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati maupun hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Nuraina, 2015).

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat atau beberapa dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larutan yang berbeda dari komponen-komponen tersebut. Ekstraksi biasa digunakan untuk memisahkan dua zat berdasarkan perbedaan kelarutan. Ekstrak sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyaring simplisia nabati dan hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh matahari yang langsung. Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan

diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Saraswati, 2015).

2.2.2 Metode Pembuatan Ekstrak

Adapun metode dari ekstraksi dibagi menjadi dua, yaitu :

a. Cara dingin

1) Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar (Saraswati, 2015).

Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarut dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada didalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada diluar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentrasi zat aktif yang ada di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel

dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa ini terjadi berulang ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara didalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

Menurut Farmakope Indonesia, pelarut yang dapat digunakan pada maserasi adalah air, etanol. Pilihan utama untuk pelarut pada maserasi adalah etanol karena etanol memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut, diantaranya :

- a) Dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman.
- b) Bersifat non toksik (tidak beracun).
- c) Etanol bersifat netral.
- d) Memiliki daya absorpsi yang baik.
- e) Dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan.
- f) Panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit.
- g) Etanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dan meminimalisir terlarutnya zat pengganggu seperti lemak (Marjoni, 2016).

Kelebihan dari metode maserasi :

- a) Peralatan yang digunakan sangat sederhana.
- b) Teknik pengerjaan relatif sederhana dan mudah dilakukan.
- c) Biaya operasionalnya relatif rendah.
- d) Dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil karena maserasi dilakukan tanpa pemanasan.
- e) Proses ekstraksi lebih hemat penyari.

Kekurangan metode maserasi :

- a) Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memerlukan banyak waktu.
- b) Proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50%.
- c) Pelarut yang digunakan cukup banyak.

- d) Kemungkinan besar ada beberapa senyawa yang hilang saat ekstraksi.
- e) Beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu kamar.
- f) Penggunaan pelarut air akan membutuhkan bahan tambahan seperti pengawet yang diberikan pada awal ekstraksi. Penambahan pengawet dimaksudkan untuk mencegah pertumbuhan bakteri dan kapang (Marjoni, 2016).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena:

- a) Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.
- b) Ruangan diantara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi (Saraswati, 2015).

b. Cara panas

1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2) Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

4) Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90°C selama 15 menit.

5) Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100°C (Saraswati, 2015).

2.2.3 Macam macam Ekstrak

Pembagian ekstrak menurut Farmakope Indonesia :

a. Ekstrak cair

Adalah ekstrak hasil penyarian bahan alam dan masih mengandung pelarut.

b. Ekstrak kental

Adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan sudah tidak mengandung cairan pelarut lagi, tetapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar.

c. Ekstrak kering

Adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan tidak lagi mengandung pelarut dan berbentuk padat (kering) (Marjoni, 2016).

2.3 Lotion

Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV, definisi lotion adalah sediaan cair berupa suspensi atau dispersi yang digunakan sebagai obat luar dapat berbentuk suspensi zat padat dalam serbuk halus dengan ditambah bahan pensuspensi yang cocok, emulsi tipe o/w dengan surfaktan yang cocok. Pelembab tubuh (*moisturizer*) umumnya dibuat dengan karakteristik tersendiri sehingga memiliki kombinasi air, tipe minyak, dan emolien (pengencer) yang berbeda satu sama lainnya (Islamiy, 2013).

Secara garis besar, ada tiga jenis pelembab tubuh :

a. *Body Lotion*

Body Lotion mempunyai konsistensi paling encer dibandingkan dengan pelembab lainnya. Lotion yang baik adalah tidak terlalu *greasy* (berminyak) saat digunakan dan dapat menyerap dengan cepat saat dioleskan di kulit. Lotion merupakan pilihan paling tepat jika membutuhkan pelembab yang ringan atau bila digunakan untuk seluruh tubuh. Karena bentuknya ringan dan tidak meninggalkan residu, lotion bisa digunakan di pagi hari tanpa perlu khawatir bisa menempel di pakaian dan juga digunakan jika tinggal di iklim yang lembab atau ketika cuaca mulai panas.

b. *Body Cream*

Body Cream bentuknya lebih pekat dibanding lotion dan mengandung lebih banyak minyak pelembab. Krim tubuh (*body cream*) ini paling baik digunakan di kulit yang kering, seperti lengan dan kaki, yang tak memiliki banyak kelenjar minyak.

c. *Body Butter*

Body Butter memiliki proporsi minyak paling tinggi, sehingga sangat kental dan mirip margarin atau mentega. Biasanya *body butter* memiliki kandungan *shea butter*, *cocoa butter*, dan *coconut butter*. Bentuk pelembab seperti ini bisa jadi sangat berminyak dan sulit dioleskan, maka akan sangat baik jika dioleskan di daerah yang amat kering dan cenderung pecah misalnya sikut, lutut, dan tumit (Islamiy, 2013).

Sediaan kosmetik dengan sistem emulsi minyak dalam air disebut lotion. Bentuk sediaan lotion memiliki keunggulan, yaitu dengan kandungan air yang cukup besar bentuk sediaan tersebut dapat diaplikasikan dengan mudah, daya penyebaran dan penetrasinya cukup tinggi, tidak memberikan rasa berminyak, memberikan efek sejuk, juga mudah dicuci dengan air (Tiran & Nastiti, 2014).

2.4 Radikal bebas

Radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya (Iswindari, 2014). Senyawa radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Apabila senyawa radikal baru tersebut bertemu dengan molekul lain, akan terbentuk radikal baru lagi, dan seterusnya sehingga akan terjadi reaksi berantai (*chain reactions*) (Wachidah, 2013).

Radikal bebas sangat penting untuk setiap proses biokimia dan merupakan bagian penting dari proses aerob dan metabolisme. Selama berjalannya metabolisme, terjadi pembentukan beberapa oksidan kuat, baik di sel darah maupun di kebanyakan sel tubuh lainnya. Radikal bebas atau yang disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang akan menyerang molekul lain

disekitarnya sehingga menyebabkan reaksi berantai terjadi dan menghasilkan radikal bebas yang beragam, seperti anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$) dan hidrogen peroksida (H_2O_2), hidroksi bebas (OH), asam hipoklorous ($HClO$) dan 8 peroksinitrat ($ONOO^-$). Reaksi radikal bebas merupakan faktor penting dalam perkembangan penyakit kronis seperti kanker, hipertensi, gagal jantung dan aterosklerosis seperti rematik dan katarak (Wachidah, 2013).

Secara umum, tahapan reaksi pembentukan radikal bebas mirip dengan *rancidity oxidative* (ketengikan oksidatif), yaitu melalui tiga tahapan reaksi berikut :

- a. Tahap inisiasi, yaitu awal pembentukan radikal bebas.
- b. Tahap propagasi, yaitu pemanjangan rantai radikal.
- c. Tahap terminasi, yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah (Wachidah, 2013).

Terdapat dua sumber radikal bebas, yaitu sumber endogen yang mana radikal bebas yang dihasilkan dalam tubuh sebagai racun oleh produk yang dari fungsi normal dalam tubuh dan sumber eksogen yang mana produksi radikal bebas disebabkan oleh rangsangan eksternal.

Sumber endogen berasal dari dalam tubuh sendiri. Di dalam tubuh, radikal bebas sering dihasilkan selama proses aerobik, seperti metabolisme, reaksi biokimia dalam sel, detoksifikasi di hati dan pembentukan energi oleh mitokondria. Radikal bebas diproduksi di mitokondria selama metabolisme aerob ketika oksigen digunakan untuk mengoksidasi makanan yang kita makan untuk menghasilkan energi. Radikal bebas dan hidrogen peroksida juga dihasilkan oleh tubuh sebagai bagian dari sistem kekebalan tubuh untuk menyerang dan membunuh bakteri yang menyerang. Dengan demikian, tubuh tidak membutuhkan dan menggunakan beberapa radikal bebas. Namun, radikal bebas yang berlebih tidak diinginkan karena mereka dapat membunuh sel-sel dan menyebabkan kerusakan jaringan. Sedangkan sumber eksogen

dimana produksi radikal bebas berasal dari rangsangan eksternal. Produksi radikal bebas ditingkatkan dengan mengonsumsi makanan tinggi lemak, minyak jenuh, daging panggang, produk makanan olahan dan makanan basi. Gaya hidup stres, merokok dan radiasi juga meningkatkan produksi radikal bebas. Radikal bebas juga masuk ke dalam tubuh melalui bahan kimia yang terdapat dalam pewarna, pengawet, dan penguat rasa makanan, serta pencemaran lingkungan dan pestisida (Wachidah, 2013).

2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, menghambat atau mencegah oksidasi lipid atau molekul lain dengan menghambat inisiasi atau propagasi dari reaksi rantai oksidatif. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihindari (Iswindari, 2014).

Secara umum, antioksidan dikelompokkan menjadi 2, yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis misalnya enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathione peroksidase. Antioksidan non-enzimatis dibagi dalam dua kelompok yaitu antioksidan larut lemak, seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin. Antioksidan non enzimatis yang kedua adalah antioksidan larut air, seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme. Antioksidan enzimatis dan non-enzimatis tersebut bekerja sama memerangi aktivitas senyawa oksidan dalam tubuh. Terjadinya stres oksidatif dapat dihindari oleh kerja enzim-enzim antioksidan dalam tubuh dan antioksidan non-enzimatis (Wachidah, 2013).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier.

a. Antioksidan primer (Antioksidan Endogenous)

Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH-Px). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase menghambat pembentukan radikal bebas, dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

b. Antioksidan sekunder (Antioksidan Endogenous)

Antioksidan sekunder atau antioksidan non-enzimatis disebut sistem pertahanan preventif. Dalam sistem pertahanan ini, terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkhelatan metal, atau dirusak pembentukannya. Antioksidan sekunder dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Senyawa antioksidan non-enzimatis bekerja dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*), kemudian mencegah reaktivitas amplifikasinya.

c. Antioksidan tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya single dan double strand, baik gugus non-basa maupun basa (Wachidah, 2013).

Salah satu contoh antioksidan alami yaitu vitamin C. Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (*aqueous antioxidant*). Senyawa ini, menurut Zakaria *et al.* (1996) dalam Sayuti & Rina (2015) merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap

senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Vitamin C merupakan salah satu antioksidan sekunder dan memiliki cara kerja yang sama dengan vitamin E, yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Dalam beberapa penelitian vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dalam menentukan aktivitas antioksidan. Vitamin C membantu mempertahankan kondisi tubuh terhadap flu dan demam (meningkatkan sistem kekebalan tubuh), mengurangi tingkat stress dan membantu proses penyembuhan. Vitamin ini juga berperan penting dalam memelihara kesehatan sel-sel kulit sehingga tetap tampak bersih, bercahaya, dan sehat.

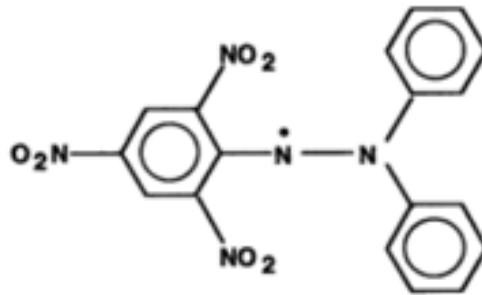
2.6 Uji DPPH

Metode DPPH merupakan metode yang cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya tinggi dalam menentukan kemampuan antioksidan menggunakan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai *free radical scavengers* atau donor hidrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta mengkuantifikasi jumlah kompleks radikal-antioksidan yang terbentuk. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang berupa padatan maupun cairan (Sadeli, 2016).

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. DPPH banyak digunakan untuk menguji kemampuan dan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan (Wachidah, 2013).

Senyawa DPPH berwarna ungu karena adanya delokalisasi elektron pada atom nitrogen setelah direaksikan dengan senyawa antioksidan menjadi Difenilpicrilhidrazin yang berwarna kuning. Hal ini mengakibatkan ikatan rangkap terkonjugasi menjadi lebih panjang sehingga panjang gelombang DPPH bergeser ke panjang gelombang yang lebih panjang dengan absorbansi kuat pada λ Max 516 nm. DPPH akan tereduksi dan warnanya akan berubah

menjadi kuning setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplotkan sebagai konsentrasi. Prinsip metode DPPH didasarkan pada pengurangan DPPH dengan adanya donor hidrogen dari antioksidan terbentuk difenil pikril hidrazin (Wachidah, 2013).



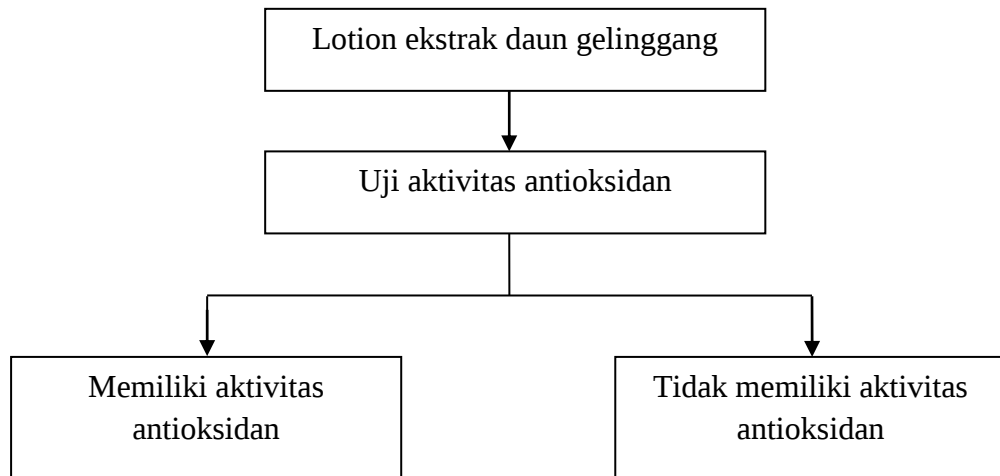
Gambar 2.3 Struktur radikal bebas DPPH

2.7 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis terdiri dari dua komponen utama, yaitu spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan spektra panjang gelombang tertentu, Sedangkan fotometer merupakan alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur energi secara relatif bila energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Sedangkan spektrofotometri adalah suatu metode yang didasarkan pada pengukuran energi cahaya tampak (visibel) atau cahaya ultraviolet (UV) oleh suatu senyawa sebagai fungsi panjang gelombang (Iswindari, 2014).

Prinsip penentuan spektrofotometer UV-Vis adalah aplikasi hukum “*Lambert-Beer*” yang menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan (Iswindari, 2014).

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep